

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 2)

(11) 特許出願公告番号

特公平7-64872

(24) (44) 公告日 平成7年(1995)7月12日

(51) Int. CL ⁸	識別記号	片内整理番号	P I	技術表示箇所
C 0 7 K 5/103	Z N A	8318-4H		
A 6 1 K 38/07	A D U			
	A D Z			
C 1 2 N 1/20		A 8828-4B		
C 1 2 P 21/02		A 9282-4B		

請求項の数5 (全 13 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平1-186760	(71) 出願人	999999999 藤沢薬品工業株式会社 大阪府大阪市中央区道修町9丁目4番7号
(22) 出願日	平成1年(1989)7月19日	(72) 発明者	奥原 正國 茨城県つくば市梅園2-14-10
(65) 公開番号	特開平2-86298	(72) 発明者	後藤 俊男 茨城県つくば市千環1-14-20
(43) 公開日	平成2年(1990)3月26日	(72) 発明者	堀 康宏 茨城県つくば市稻荷前9-6-303
(31) 優先権主張番号	8 8 1 7 7 4 3 . 1	(72) 発明者	藤田 隆 茨城県土浦市永国1125-10
(32) 優先日	1988年7月26日	(72) 発明者	上田 博嗣 茨城県つくば市梅園2-15-2
(33) 優先権主張国	イギリス (GB)	(72) 発明者	重松 伸治 茨城県つくば市梅園2-5-4-601
微生物の受託番号	FERM BP-1968	審査官	田村 明昭

(54) 【発明の名称】 FR901228物質およびその製造法

1

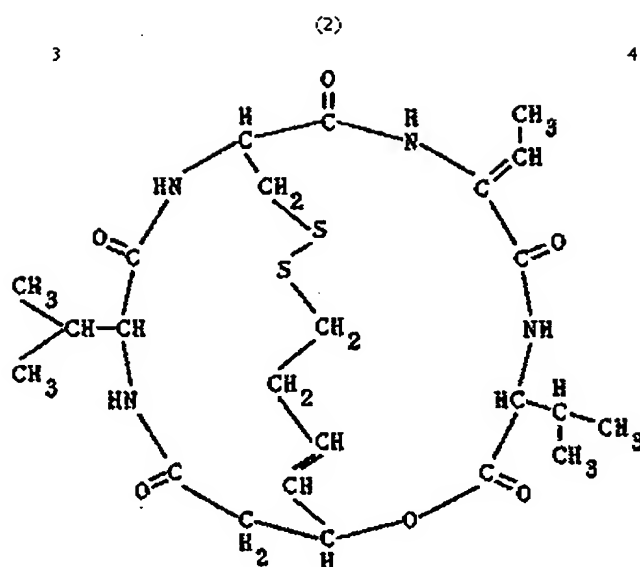
【特許請求の範囲】

2

【請求項1】 次式で表わされるFR901228物質：

Best Available Copy

特公平7-64872



【請求項2】FR901228物質を生産しうるクロモバクテリウム属菌株を水性栄養培地中で好気性条件下に培養し、FR901228物質を回収することを特徴とするFR901228物質の製造法。

【請求項3】クロモバクテリウム属菌株がクロモバクテリウム・ビオラセウムWB968 (FERM BP-1968) であることを特徴とする請求項2)に記載の方法。

【請求項4】クロモバクテリウム・ビオラセウムWB968 (FERM BP-1968) の生物学的に純粋な菌株。

【請求項5】有効成分としてFR901228物質を含有する抗腫瘍剤。

【発明の詳細な説明】

この発明は、生物活性を有する新規化合物（以下FR901228物質という）に関する。より詳しくは、この発明は、抗菌活性および抗腫瘍活性を有する生物学的に活性な新規FR901228物質、その製造法およびそれを含有する医薬組成物に関する。

この発明のFR901228物質は、クロモバクテリウム・ビオラセウム (*Chromobacterium violaceum*) WB968のごとき、クロモバクテリウム属に属するFR901228物質生産菌を栄養培地中で培養することにより製造できる。

以下、この酸酵法を詳細に説明する。

(1) 微生物

FR901228物質の製造に用いる微生物の詳細を以下に説明する。

WB968株の分類学的研究：

日本国山形県で採取された土壌試料からWB968株が単離された。

この分類学的研究には、主として、バーシース・マニュアル・オブ・システマティック・バクテリオロジー（第1巻）に記載されている諸方法を採用した。

(i) 形態学的特徴

WB968株の形態観察は、栄養ブロスおよび寒天上、30℃で20時間培養した細胞について、光学顕微鏡および電子顕微鏡を用いて行った。

WB968株は、グラム陰性の運動性細菌であった。細胞の形態は、桿菌で、大きさが約0.5～0.6×1.2～1.8μmであった。

結果を第1表に示した。

第1表 WB968株の形態学的特徴

グラム染色	陰性
コロニーの色	灰色がかった橙
細胞の形	桿
細胞の大きさ	0.5～0.6×1.2～1.8μm
孢子	陰性
運動性	陽性
鞭毛	単一極性鞭毛

(ii) 生理学的特徴

WB968株の生理学的特徴を第2表にまとめた。成育温度域は15℃～40℃であった。

WB968株は、オキシダーゼ陽性、カタラーゼ陽性であり、O-Fテストで酸酵性であった。カゼインは加水分解されたが、エスクリン加水分解は陰性であった。グルコース、フルクトースおよびトレハロースは酸酵した。インドールテストは陰性であった。フォーゲル・プロスカウエルテストは陰性であった。β-ガラクトシダーゼテスト (ONPGテスト) も陰性であった。

Best Available Copy

第2表 WB968株の生理学的特徴

条件	特徴
成育温度	15~40℃
空気中での成育	陽性
NaCl不含ペプトン水中での成育	陽性
6%NaCl中での成育	陰性
KCNブロス中での成育	陽性
莖色色素	陰性
カタラーゼ	陽性
オキシダーゼ	陽性
O-Fテスト	醗酵性
グルコースからのガス	陰性
G/129感受性(10, 150 μg)	陰性
硝酸塩還元	陽性
トウィーン80エステラーゼ	陽性
H ₂ S産生(TSI)	陰性
インドール	陰性
MR	陰性
VP	陰性
シモンズクエン酸塩	陽性
ONPGテスト	陰性
ウレアーゼ	陽性
ONアーゼ	陽性
デンプン加水分解	陰性
ゼラチン液化	陽性
カゼイン加水分解	陽性
エスクリン加水分解	陰性
リジンデカルボキシラーゼ	陰性
オルニチンデカルボキシラーゼ	陰性
アルギニンジヒドロラーゼ	陽性
DNAのG+C含量	62.7モル%
主要細胞脂肪酸	C16:1
キノンタイプ	Q-8
糖からの酸	
D-グルコース	陽性
L-アラビノース	陰性
D-マンニトール	陰性
D-フルクトース	陽性
D-ガラクトース	陰性
D-ソルビトール	陰性
D-トレハロース	陽性
スクロース	陰性
ラクトース	陰性
サリシン	陰性
マルトース	陰性
セロビオース	陰性

(iii) 同定

バーギーズ・マニュアル・オブ・システムマティック・バクテリオロジー (第1巻) に従い、上記諸特徴から、WB

(3)

特公平7-64872

6

968株を、クロモバクテリウム・ビオラセウムと同定した。

クロモバクテリウム・ビオラセウムWB968の培養物を、ブダベスト条約ルートにより、1988年7月20日に、工業技術院微生物工業技術研究所(日本国305茨城県つくば市東1丁目1-3)に、寄託番号FERM BP-1968で寄託されている。

これに関して、WB968株は、その上記機関への寄託時には、アエロモナス種(*Aeromonas* sp.)と同定されていたが、現在では前記のように同定されている。

(2) FR901228物質の生産

この発明のFR901228物質は、クロモバクテリウムに属するFR901228物質生産性菌株(たとえば、クロモバクテリウム・ビオラセウムWB968)を、同化性炭素源および同化性窒素源を含有する栄養培地中で、好気的条件下に(たとえば振盪培養、液内培養など)成育させるとき、生産される。

栄養培地中の好ましい炭素源は、グルコース、デンプン、フルクトース、グリセリンなどの炭水化合物である。好ましい窒素源は、ブイヨン、酵母エキス、ペプトン、グルテン・ミール、綿実粉、大豆粉、コーン・ステイブ・リカー、乾燥酵母、麦芽など、ならびに、アンモニウム塩(たとえば硝酸アンモニウム、硫酸アンモニウム、磷酸アンモニウムなど)、尿素、アミノ酸などの無機および有機窒素化合物である。

炭素源および窒素源は、組合せて使用するのが有利であるが、微量の成長因子類および相当量の無機栄養素を含有する、あまり純粋でない材料も使用に適しているの

で、それらを純粋な形で使用する必要はない。

30 所望するときは、培地に、炭酸ナトリウムまたはカルシウム、磷酸ナトリウムまたはカリウム、塩化ナトリウムまたはカリウム、沃化ナトリウムまたはカリウム、マグネシウム塩類、銅塩類、コバルト塩類などの無機塩類を添加してもよい。

必要ならば、とくに培地が著しく泡立つときは、流動パラフィン、脂肪油、植物油、鉱油、シリコンなどの消泡剤を添加してもよい。

他の生物活性物質の大量生産に好んで用いられる方法の場合と同様に、FR901228物質の大量生産にも、好気的液内培養条件が好ましい。

少量生産には、フラスコ中での振盪培養を採用する。

また、培養を大型タンク中で実施する場合には、FR901228物質生産プロセスでの成育遅延を避けるため、生産タンクへの接種に該細菌の増殖型細胞を用いるのが好ましい。従って、まず、相対的に少量の培地に該細菌の細胞を接種し、該接種培地を培養して該細菌の増殖型細胞を生産し、つぎに、これら培養増殖型細胞を大型タンクに移すのが望ましい。増殖型細胞を生産する培地は、FR901228物質の生産に用いる培地と実質的に同じであっても異なってもよい。

Best Available Copy

(4)

特公平7-64872

7

培養混合物の攪拌、通気は、種々の方法で達成できる。攪拌は、プロペラ型などの機械的攪拌装置により、酸酵槽の回転または振盪により、種々のポンプ装置により、あるいは無菌空気を培地に通すことによりもたらしうる。通気は、無菌空気を酸酵混合物に通すことにより実施できる。

酸酵は、通常、約10℃～40℃、好ましくは25℃精製法、たとえばクロマトグラフィーあるいは適当な溶媒または何種類かの溶媒の混合物からの再結晶によって、精製する。

FR901228物質の物理化学的性質

上記の酸酵法に従って得られるFR901228物質は、次の物理化学的性質をもつ。

外観：無色プリズム晶

本質：中性物質

融点：235～245℃（分解）

比旋光度：+39°（c=1.0, CHCl₃）

分子式：C₂₄H₂₈N₄O₈S₂

元素分析：C₂₄H₂₈N₄O₈S₂・CH₃CNとしての計算値：C, 53.68; H, 5.76; N, 12.04; S, 11.02（%）

実測値：C, 53.68; H, 6.71; N, 11.80; S, 11.09（%）

分子量：540.72

FAB-MS m/z 541. (M+H)⁺

溶解性：

可溶：クロロホルム、酢酸エチル

～35℃の間の温度で、酸酵条件および規模によっても変りうるが、約15～50時間にわたって実施する。

酸酵が完了すると、培養液を、生物活性物質の回収および精製に慣用的に使用される種々のプロセス、たとえば適当な溶媒または何種類かの溶媒の混合物による溶媒抽*30

$$\nu_{\text{KBr}}^{\text{max}} = 3360, 3320, 2950, 2910, 1740, 1690, \\ 1660, 1650, 1630, 1520, 1480, 1440, \\ 1400, 1390, 1370, 1350, 1300, 1250, \\ 1220, 1170, 1100, 1040, 1020, 1000, \\ 980, 910 \text{ cm}^{-1}$$

¹H核磁気共鳴スペクトル：

添付の図面の図2に示す通り、

[CDCl₃-CD₃OD (10:1), 400MHz]

δ: 8.41 (1H, s, 交換可能), 8.25 (1H, d,

J=4Hz, 交換可能), 7.80 (1H, d, J=6.5Hz, 交換可

能), 7.66 (1H, d, J=8Hz,

交換可能), 6.31 (1H, q, J=7Hz), 5.76

(1H, m), 5.70-5.63 (2H, m), 4.69 (1H, m),

4.51 (1H, m), 3.97 (1H, dd, J=6および

4Hz), 3.20-3.07 (3H, m), 2.95 (1H, m),

2.83 (1H, dd, J=14および1.5Hz), 2.66

(1H, dd, J=14および6Hz), 2.65-2.60

(2H, m), 2.37 (1H, m), 2.22 (1H, m), 1.72

(3H, d, J=6.5Hz), 1.10 (3H, d, J=7Hz),

1.08 (3H, d, J=7Hz), 1.00 (3H, d,

J=6.5Hz), 0.97 (3H, d, J=7Hz)

¹³C核磁気共鳴スペクトル：

添付の図面の図3に示す通り、

(CDCl₃-CD₃OD (10:1), 100MHz)

δ: 172.34 (s), 171.43 (s), 169.17 (s),

* 出. クロマトグラフィーあるいは適当な溶媒または何種類かの溶媒の混合物からの再結晶に付して、FR901228物質を回収する。

この発明によれば、一般に、FR901228物質は主として細菌細胞内に見出される。しかし、濾液もFR901228物質を含有する。従って、培養液全体を、たとえば、熱水、アセトン、酢酸エチルなどの適当な溶媒あるいはこれらの溶媒の混合物を用いての抽出による、FR901228物質単離プロセスに直接付すのが好ましい。

10 抽出液を常法により処理すると、FR901228物質が得られる。たとえば、抽出液を蒸発または蒸留によって少量になるまで濃縮し、得られる活性物質（すなわちFR901228物質）含有残渣を、慣用的溶媒：メタノール、エタノール

不溶：水、ヘキサン

呈色反応：

陽性：硫酸セリウム反応、硫酸反応、沃素蒸気反応

陰性：ニンヒドリン反応、塩化第二鉄反応、エールリッ

ヒ反応、モリッシュ反応

20 薄層クロマトグラフィー：

固定相	展開溶媒	Rf値
シリカプレート*	ジクロロメタン：メタノール (10:1)	0.65

* シリカプレート、キーゼルゲル60F₂₅₄ (E. メルク社製)

紫外吸収スペクトル：

末端吸収（メタノール中）

赤外吸収スペクトル：

添付の図面の図1に示す通り、

Best Available Copy

(5)

特公平7-64872

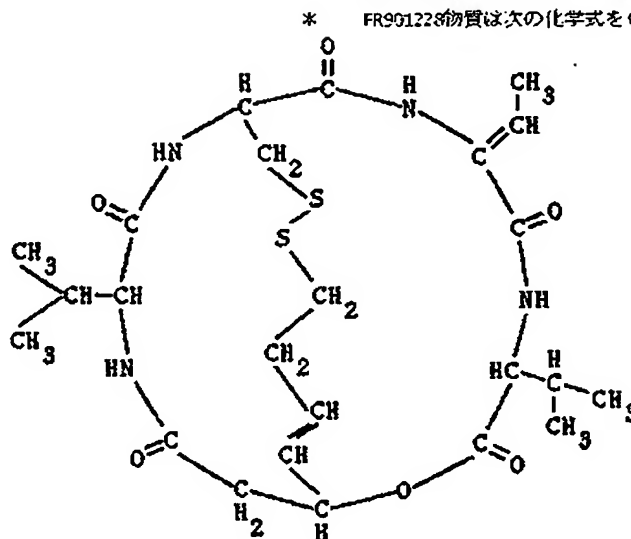
9

168.37 (s), 155.59 (s), 130.36 (d),
129.64 (d), 129.62 (s), 129.04 (d),
70.15 (d), 62.42 (d), 58.10 (d), 56.57
(d), 37.75 (t), 37.56 (t), 34.46 (t),
31.65 (d), 30.02 (t), 28.88 (d), 19.09
(q), 18.96 (q), 18.29 (q), 18.03 (q),
13.04 (q)

アミノ酸分析:

10

* FR901228物質 (4mg) を、封管中、6N塩酸 (2ml) により
110℃で20時間加水分解した。反応混合物を自動アミノ
酸分析装置で分析した。FR901228物質のアミノ酸分析の
結果、バリンおよびアンモニアの存在が判明した (バリン
とアンモニアとの比は2:1)。
上記のデータを含めての物理化学的性質およびFR901228
物質から誘導した若干の誘導体の化学構造の解析から、
FR901228物質は次の化学式をもつことが証明される:



FR901228物質から誘導された誘導体:
FR901228物質から若干の誘導体を誘導した。
製造例1

FR901228物質から、FR123392物質およびFR125441物質を
誘導した。

30

Best Available Copy

(6)

特公平7-64872

11

12

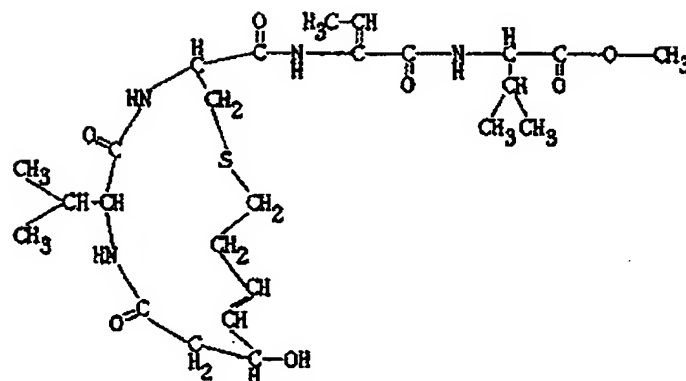
FR901228物質



アルカリ加水分解

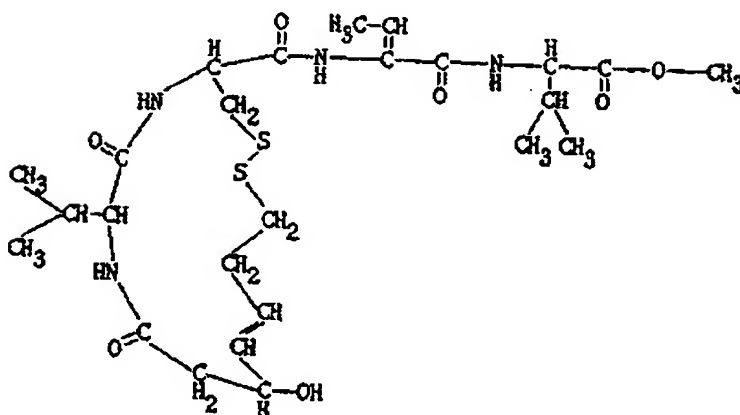


トリメチルシリルジアゾメタン



FR123392物質

+



FR125441物質

FR901228物質 (5mg) のメタノール (2ml) 溶液に、1N 水酸化ナトリウム水溶液 (200ml) を加えた。室温で12時間開栓後、塩酸を加えてpHを1に調整し、酢酸エチルで抽出した。硫酸マグネシウムで乾燥し、濾過したの

ち、溶媒を蒸発させた。残渣をメタノールに溶解し、トリメチルシリルジアゾメタン (1ml) を加えた。5分後に酢酸1滴を加え、溶媒を蒸発させた。残渣を分取薄層クロマトグラフィー (0.5mm×2) で精製し、クロロホ

Best Available Copy

(7)

特公平7-64872

13

14

ルム中10%メタノールで展開して、FR123392物質 (15m
q) およびFR125441物質 (10mq) を得た。

FR123392物質:

¹H核磁気共鳴スペクトル:

[CDCl₃ - CD₃CO (10:1), 200MHz]

δ: 0.98 (12H, m), 1.75 (3H, d, J=7Hz), 2.0-

* 2.9 (10H, m), 3.05 (1H, dd, J= 4 および
14Hz), 3.71 (3H, s), 4.13 (1H, d, J= 8Hz),
4.37 (2H, m), 4.57 (1H, dd, J= 5 および
10Hz), 5.6 (2H, m), 6.64 (1H, q, J= 7Hz),
7.48 (1H, d, J= 10Hz)

* 赤外吸収スペクトル:

$\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} = 3260, 2920, 2400, 1720, 1620, 1510,$

$1430, 1260, 1200, 1010 \text{ cm}^{-1}$

FAB-MS m/z 541 (M+H)⁺

FR125441物質:

¹H核磁気共鳴スペクトル:

[CDCl₃ - CD₃CO (10:1), 400MHz]

δ: 0.95 (12H, m), 1.76 (3H, d, J=7Hz), 2.20

(1H, m), 2.35 (3H, m), 2.7 (4H, m), 2.98

(1H, dd, J= 13および8Hz), 3.08 (1H, dd,

J= 13および4.5Hz), 3.72 (3H, s), 4.14

1H, d, J= 6Hz), 4.35 (1H, d, J= 7Hz), 4.43

(2H, m), 5.67 (1H, dd, J= 6および15Hz),

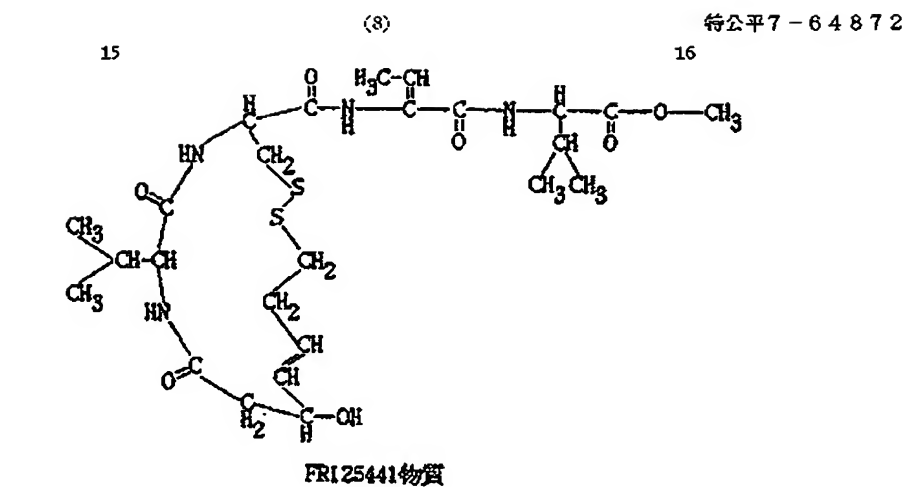
5.78 (1H, dt, J= 15および6Hz), 6.70 (1H, q, J= 7Hz)

FAB-MS m/z 573 (M+H)⁺

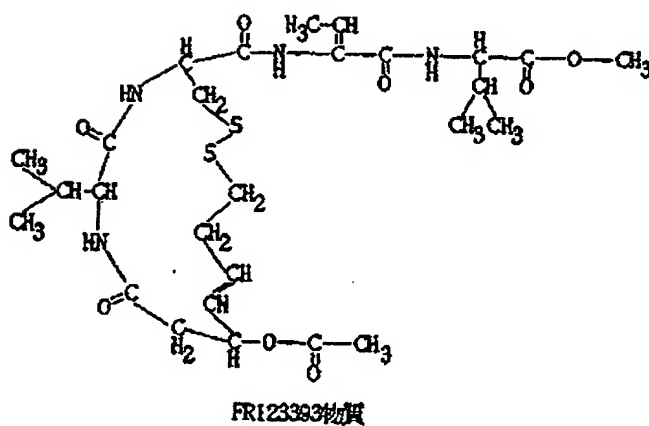
製造例2

FR125441物質から、FR123392物質を誘導した。

Best Available Copy



↓ 無水酢酸



FRI25441物質 (10mg) のピリジン (0.8ml) 溶液に、無水酢酸 (0.4ml) を加えた。室温で12時間攪拌後、溶媒を蒸発させた。残渣を分取薄層クロマトグラフィー (0.5mm×1) に付し、クロロホルム中5%メタノールで展開して、FRI23393物質 (10mg) を得た。

FRI23393物質：

¹H核磁気共鳴スペクトル：

* [CDCl₃ - CD₃OD (10:1), 200MHz]

δ: 1.0 (12H, m), 1.75 (3H, d, J = 7Hz), 2.05 (3H, s), 1.9-3.3 (10H, m), 3.70 (3H, s), 4.20 (1H, d, J = 8Hz), 4.34 (1H, d, J = 7Hz), 4.84 (1H, m), 5.5 (2H, m), 5.84 (1H, dt, J = 15および7Hz), 6.65 (1H, q, J = 7Hz)

* 赤外吸収スペクトル：

$\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} = 3280, 2950, 2430, 1720, 1630, 1500,$

$1425, 1360, 1225, 1010, 960 \text{ cm}^{-1}$

FAB-MS m/z 615 (M+H)⁺

製造例3

FR901228物質から、FRI23393物質を誘導した。

Best Available Copy

(9)

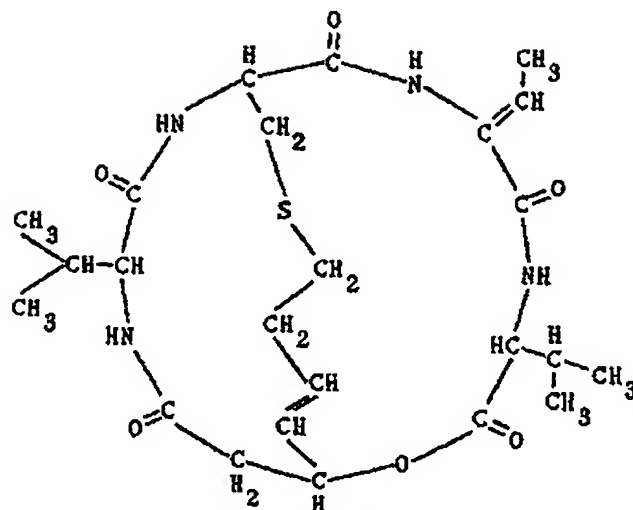
特公平7-64872

17

18

FR901228物質

トリフェニルホスフィン



FR123395物質

FR901228物質 (5mg) のジオキサン (2ml) 溶液に、トリフェニルホスフィン (55mg) を加えた。室温で7時間攪拌後、溶媒を減圧下に除去した。残渣を分取層クロマトグラフィー (0.5mm×2) に付し、クロロホルム中2%メタノールで展開して、FR123395物質 (10mg) を得た。

FR123395物質:

$$\nu_{\text{KBr max}} = 3300, 2920, 2470, 1730, 1640, 1500,$$

$$1420 \text{ cm}^{-1}$$

FR901228物質の生物学的性質

FR901228物質の生物活性を示す例として、若干の生物学的データを以下に説明する。

試験例1

FR901228の抗菌活性

FR901228の抗菌活性を、サブロー培地中で寒天稀釈法によって求めた。

最小阻止濃度 (MIC) を、25℃で48時間インキュベーション後に、 $\mu\text{g/ml}$ で表わす。結果を第3表に示す。

第3表 FR901228物質の抗菌活性

菌株	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
シゾサッカロマイセス・ボンベ	10

* ^1H 核磁気共鳴スペクトル:[$\text{CDCl}_3 - \text{CD}_3\text{OD}$ (10:1), 200MHz]

δ : 1.0 (12H, m), 1.5 (1H, m), 1.85 (3H, d, J = 7Hz), 2.1-3.1 (9H, m), 3.90 (1H, d, J = 8Hz), 4.45 (1H, d, J = 7Hz), 5.65-6.0 (4H, m), 6.24 (1H, q, J = 7Hz)

* 赤外吸収スペクトル:

(Schizosaccharomyces pombe)

オーレオバシジウム・ブルランス 10

(Aureobasidium pullulans)

IFO 4466

アスペルギルス・ニゲル 100

(Aspergillus niger)

試験例2

FR901228物質によるインビトロでのヒト胆嚢細胞成育阻害

ウシ胎児血清10%, ペニシリン (50単位/ml) およびストレプトマイシン (50 $\mu\text{g/ml}$) を追加したダルベッコの最小必須培地100 μl 中の胆嚢細胞 3×10^4 個を各ウェル

Best Available Copy

(10)

特公平7-64872

19

に含有するマイクロタイタープレートで細胞毒性試験を行った。細胞を37℃で4日間インキュベートし、モスマン

(Mosmann: J. Immunol. Methods, 65, 55-63, 1983) が記載している方法に従って、比色MTT [3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-2,5-ジフェニルテトラゾリウム・プロミド、シグマ社製] アッセイを行った。MTTを磷酸緩衝液 (PBS) に5mg/ml濃度に溶解し、濾過して滅菌するとともに少量の不溶残渣を除去した。ヒト腫瘍細胞の培養終了後、このMTT溶液を全てのアッセイウェルに加え (培地100μl当たり10μl)、プレートをさらに37℃で4日間インキュベートした。酸性イソプロパノール (イソプロパノール中0.04N HCl 100μl) を全てのウェルに加え、よく混ぜて、暗青色の結晶を溶解させた。全部の結晶が溶解後、プレートを、550nm、参照波長660nmで、2波長マイクロプレート光度計 (MTP-22型; 日本国藤田市コロナ電気株式会社) にかけて読み取った。この発明の目的化合物はメタノールに溶解し、ダルベッコの最小必須培地で希釈し、培養物に加えて最終濃度を1μg/ml以下とした。結果を第4表に示す。

第4表 FR901228物質に
よりインヒットロ
でのヒトの腫瘍
細胞増殖阻害

ヒトの腫瘍細胞株	IC ₅₀ (ng/ml)
A549 (肺癌)	0.82
MCF-7 (乳癌)	0.99
SW480 (結腸癌)	0.67

試験例3

P388マウス白血病に対するFR901228物質の抗腫瘍活性
FR901228物質の抗腫瘍活性を、マウス腫瘍系で測定した。P388白血病細胞 (1×10⁶) を、BDF₁ マウス (雌性、8週令) の腹腔内に移植した。腫瘍細胞接種2週間後に、FR901228物質をマウスに腹腔内投与した。もう3日間毎日1回のFR901228物質の腹腔内投与を続けた。FR901228物質は0.9%食塩水に懸濁させた。対照マウスには0.9%食塩水を腹腔内投与した。結果を第5表に示す。抗腫瘍活性は、群の平均生存時間として、また平均生存時間のT/C% (100×処置群対照群) として表わした。

第5表 P388マウス白血病に対するFR901228物質の抗腫瘍活性

用量 (mg/kg/日)	n	平均生存時間 (日)	T/C (%)
対照	4	9.0	100
1.0	4	15.25	169.4
0.32	4	14.25	158.3

試験例4

FR901228物質の急性毒性

BDF₁ マウスに腹腔内投与したときのFR901228物質の急性

20

毒性は、5.6mg/kgであった。

上記試験結果から、FR901228物質が生物活性を有することが認められる。

この発明の医薬組成物は、たとえば活性成分としてのFR901228物質を、外用、経口または非経口適用に適した有機または無機の担体または賦形剤との混合物として含有する固体、半固体または液体形態の医薬製剤の形で使用できる。該活性成分は、たとえば、錠剤、ペレット、カプセル、坐剤、液剤、乳濁液、懸濁液、その他の使用に適した形態適用の、通常の、無毒性で、医薬として許容しうる担体と混ぜ合わせることができる。更に、必要ならば、助剤、安定剤、増粘剤、着色剤および香料を使用してもよい。FR901228物質は、疾患の過程または状態に対して所望の抗腫瘍効果を生じるのに十分な量を該医薬組成物に含ませればよい。

該組成物をヒトに適用するには、静脈内、筋肉内または経口投与によってこれを適用するのが好ましい。FR901228物質の治療上有効な用量は、処置すべき個々の患者の年齢および状態によっても相違し、それらに依存もするが、通常、静脈内投与の場合には、ヒトの体重1kg当たりFR901228物質の1日量0.1~100mg、筋肉内投与の場合には、ヒトの体重1kg当たりFR901228物質の1日量0.1~100mg、経口投与の場合には、ヒトの体重1kg当たりFR901228物質の1日量0.1~100mgを投与して腫瘍を処置する。上記したFR901228物質から誘導した誘導体も抗腫瘍活性を有する。

以下の実施例は、本発明をより詳細に説明するために示したものである。

実施例1

酸酵

グルコース (1%) およびブイヨン (1%) を含有する培地 (150ml) を、500ml三角フラスコの各々に注入し、120℃で30分間滅菌した。クロモバクテリウム・ヒオラセウムWB968の斜面培養物1白金耳を培地の各々に接種し、回転振盪機上、30℃で24時間培養した。得られた培養物を、グルコース (1%)、ブイヨン (1%) およびアデカノール (消泡剤、商標、旭電化工業製) (0.05%) を含む培地 (15l) を12本の30リットルジャーファーマンターの各々に入れ、前もって120℃で30分間滅菌したものに接種し、20l/分の通気、200rpmの攪拌のもとに、30℃で24時間培養した。

単離および精製:

培養終了後、各ジャーファーマンターを120℃で30分間滅菌した。こうして得た培養液を珪藻土 (10kg) を用いて濾過した。濾液 (150l) を酢酸エチル (150l) で2回抽出した。抽出液を減圧下に蒸発させて、油状の残渣を得た。この油状残渣をシリカゲル (キーゼルゲル60、70~230メッシュ、E.メルク社製) 500gと混合し、この混合物をメタノール中でスラリー化した。溶媒を蒸発後、生じた乾燥粉末を、n-ヘキサンを用いて充填した同じ

Best Available Copy

(11)

特公平7-64872

21

シリカゲル (0.51) によるカラムクロマトグラフィーに付した。カラムをn-ヘキサン (21)、n-ヘキサンと酢酸エチルとの混合物 (3:1 v/v、31;1:1 v/v、31;1:2 v/v、31) および酢酸エチル (51) で展開した。目的化合物を含有する画分を集めて、減圧下に濃縮し、僅かに黄色がかった粉末の形のFR901228物質を得た。この粉末を、ジクロロメタンとメタノールとの混合物 (10:1 v/v、10ml) に溶解した。この溶液にアセトニトリル (20ml)

22

*1)を加えた。これを室温に保持して、精製FR901228物質 (920mg) を無色の結晶として得た。

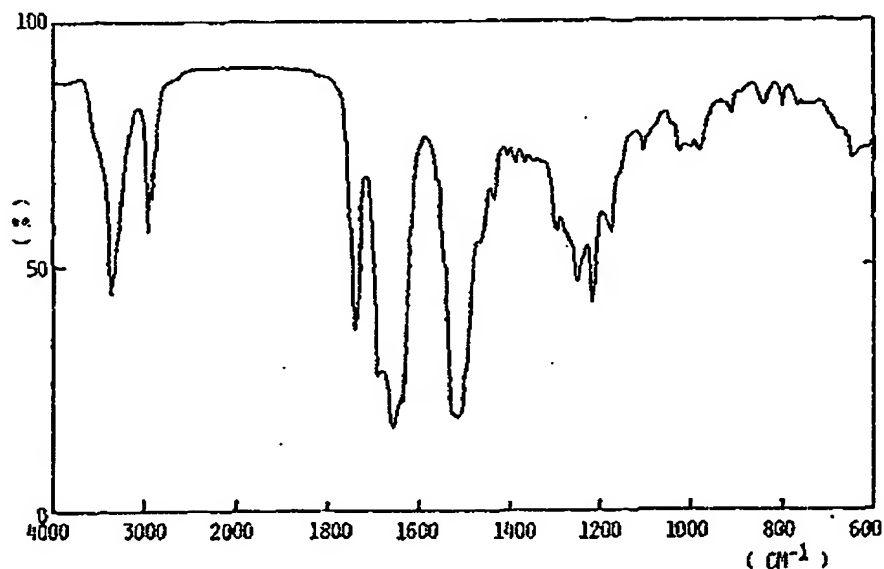
【図面の簡単な説明】

図1はFR901228物質の赤外吸収スペクトルを表す。

図2はFR901228物質の¹H核磁気共鳴スペクトルを表す。

図3はFR901228物質の¹³C核磁気共鳴スペクトルを表す。

【第1図】

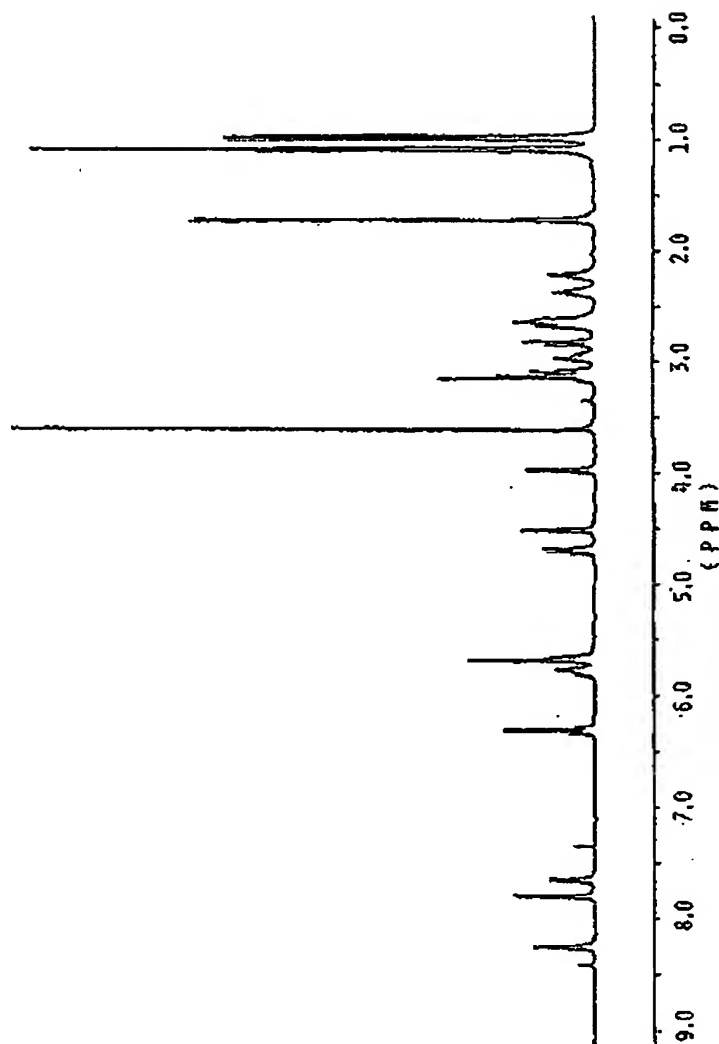


Best Available Copy

(12)

特公平7-64872

【第2図】

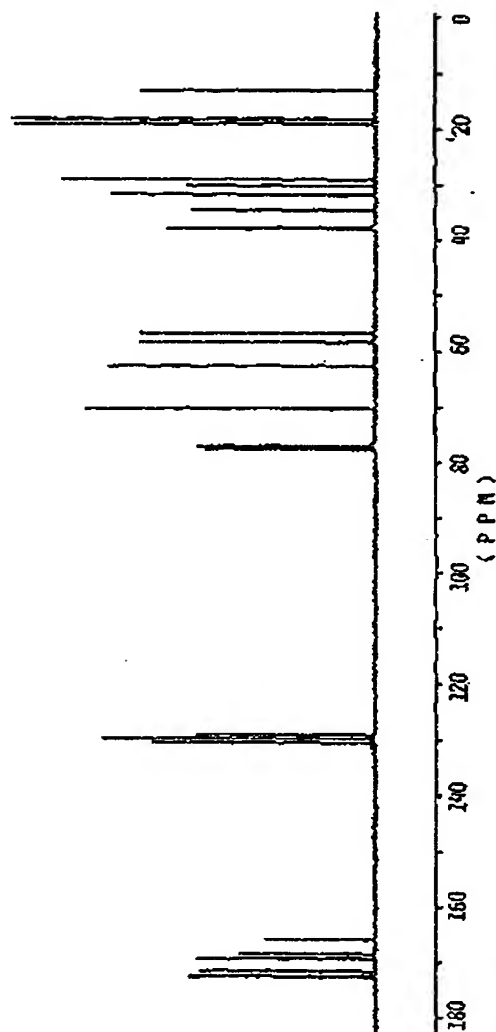


Best Available Copy

(13)

特公平7-64872

【第3図】



 フロントページの続き
(51)Int.Cl.[°]

識別記号

片内整理番号

F I

技術表示箇所

//C12N 1/20

C12R 1:01)

(C12P 21/02

C12R 1:01)

Best Available Copy